Aus der Universitätsfrauenklinik München
Vorstand: Prof. Dr. H. Eymer

Eine neue Methode der Gewinnung von gonadotropem Hormon aus Harn

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der Bayerisch. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Paul Schulz
Mannheim

4928

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548309_0031

Aus der Universitätsfrauenklinik München
Vorstand: Prof. Dr. H. Eymer

Eine neue Methode der Gewinnung von gonadotropem Hormon aus Harn

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der Bayerisch. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Paul Schulz
Mannheim

Referent: Dozent Dr. F. G. Dietel.

Tag der mündlichen Prüfung: 28. I. 1938.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Vom gonadotropen Hormon (gon. H.) werden zwei Arten unterschieden:

1. Das von Zondek im Urin schwangerer Frauen gefundene gon. H., dessen Wirkungsweise er genau festlegte (siehe unten). Als Entstehungsort dieses Hormons nimmt Zondek den Hypophysenvorderlappen an.

2. Philipp ist der Nachweis zu verdanken, daß dieses Hormon, von Zondek Prolan genannt, aus der Plazenta stammt, eine Ansicht, die heute so gut wie allgemein anerkannt ist.

Außer in der Schwangerschaft kann aber auch häufig bei Genitalerkrankungen eine vermehrte Ausscheidung von gon. H. erfolgen. Sie wurde sowohl bei vielen Myomträgerinnen, als auch besonders bei Frauen mit Collumcarcinom nachgewiesen.

Während also das bei Gravidität ausgeschiedene Prolan aus der Plazenta stammt, wird das bei Carcinom, Myom und auch im Klimakterium vermehrt produzierte gon. H. zweifellos im Hypophysenvorderlappen (H.V.L.) gebildet. Eine einwandfreie chemische Differenzierung der beiden Wirkstoffe ist bis heute noch nicht erfolgt, beide lassen sich mit den gleichen Methoden sowohl aus H.V.L wie Plazenta extrahieren, als auch aus dem Urin gewinnen. Die Wirkung des aus dem Urin gewonnenen Hormons aufs Ovar, gleich ob es aus Prähypophyse oder Mutterkuchen stammt, beruht in:

1. Follikelreifung,
2. Bildung von Blutpunkten,
3. Bildung von Corpora lutea.

Die gesunde Frau scheidet täglich 10—30, höchstens einmal 50 Mäuseeinheiten (M.E.) Prolan aus, die Frau, die an Collumcarcinom erkrankt ist, etwa 110 M.E. Die vermehrte Ausschei-

dung, welche sich vor allem auch nach Kastration und im Klimaterium bemerkbar macht, wird von Zondek als Folge einer Hyperfunktion der Hypophyse bedeutet. Beim Carcinom der Gebärmutter ist diese Hyperfunktion nach Borst vielleicht durch einen vermehrten Eiweißabbau im Tumorgewebe zu erklären.

Es ist heute noch eine offene Frage, ob die

Follikelreifung (H.V.R.A.) und die
Corpus-luteum-Bildung (H.V.R.B.)

von ein- und demselben Prinzip veranlaßt wird, oder ob zwei Wirkstoffe die differenten Vorgänge auslösen. Wenn auch eine chemische Trennung in zwei Komponenten bisher nicht gelang, so sprechen doch viele tierexperimentelle Ergebnisse für die sogenannte „dualistische" Auffassung. Fest steht, daß beim Myom, im Klimakterium und beim Collumcarcinom vorwiegend der A.-Faktor im Urin zur Ausscheidung kommt. Nur nach sehr starkem Konzentrieren der Extrakte machen sich zuweilen Luteinisierungserscheinungen bemerkbar.

Herr Dozent Dr. F. G. Dietel, der schon seit Jahren das Bestreben hat, die großen, im Urin carcinomkranker Frauen ausgeschiedenen Mengen gonadotropen Hormons (Faktor A) der hormonalen Therapie nutzbar zu machen, hat mich beauftragt, ein bestimmtes Gebiet, welches zur Verwirklichung der oben beschriebenen Idee beitragen könnte, zu bearbeiten.

In Anbetracht des vom H.V.L. auf den ovariell-mensuellen Cyklus ausgeübten Einflusses und der theoretisch gut begründeten Möglichkeit, bei ovarieller Insuffizienz mit Amenorrhoe durch Injektionen größerer Mengen von reinem Follikelreifungshormon die Follikelreifung und damit den Cyklus erstmalig oder wieder in Gang bringen zu können, erscheint das gestellte Problem sehr wichtig für weitere wissenschaftliche und vor allem auch klinische Versuche.

Mit den bisher im Handel zu habenden Prolanpräparaten sind beachtliche Erfolge nicht gezeitigt worden. Dies scheint erklärlich, da in Anbetracht der Wirkungsweise der Präparate Follikelreifungsvorgänge immer von solchen der Luteinisierung gefolgt sein müssen. Deshalb ging Dietel's Bestreben dahin, möglichst große Mengen des A.-Faktors in reinster Form aus dem Urin carcinomkranker Frauen zu gewinnen. Die bis-

her bekannten Darstellungsmethoden sind für die Verwirklichung dieses Zieles nur wenig geeignet, schon deshalb, weil mit ihnen eine isolierte Gewinnung von Prolan A nicht angestrebt wurde.

Bekannt sind, neben vielen hier nicht in Betracht kommenden Methoden, vor allem zwei Verfahren:

1. die Alkoholfällungsmethode nach Zondek,
2. die sich an 1. anschließende weitere Reinigung nach Fischer und Ertel.

1. Zondek stellte das Prolan mit der von ihm abgegebenen Alkoholfällungsmethode dar. Er fällte den filtrierten mit 1prozentiger Essigsäure angesäuerten Morgenurin von Schwangeren mit der fünffachen Menge 96prozentigen Alkohols, ließ 24 Stunden absitzen, zog die getrocknete Fällung mit Aqua dest. aus und injizierte die so gewonnene hormonhaltige Lösung infantilen Mäusen, deren Ovarien 100 Stunden nach der ersten Injektion histologisch untersucht wurden.

2. Die von Fischer und Ertel angegebene Methode führte zu einer weiteren, erheblichen Reinigung des durch die Alkoholfällung erhaltenen Hormons mit Hilfe von Adsorption an Kaolin und Elution mit Ammoniumphosphatlösung. Das überschüssige Phosphat wurde mit Bariumacetat und Bariumhydroxyd entfernt. Durch das beschriebene Verfahren konnte eine 10fache Wirkungssteigerung erzielt werden.

Dietel kam nun zu einer neuen aussichtsreicheren und vor allem einfacheren Methode der Hormongewinnung aus dem Harn, welche ebenfalls die Adsorption und Elution zur Grundlage hat. Er ging folgendermaßen vor:

Als Adsorbentien wurden verwendet:

1. Kaolin (Merk), welches während 14 Tagen mit Aqua dest. aufgeschwemmt wurde; das überstehende Aqua dest. mußte zweitägig gewechselt werden.

2. Aluminiumhydroxyd, selbst hergestellt nach den Angaben von Willstätter. Es kam lediglich die γ-Form zur Anwendung. Die Aufschwemmung dieser beiden Adsorbentien wurde so hergestellt, daß bei scharfem Zentrifugieren (ohne nachfolgende Trocknung)

a) sich aus 10 ccm Kaolinaufschwemmung 2 gr. Kaolin absetzten, und aus
b) 6 ccm Aluminiumhydroxydaufschwemmung 1 gr. Aluminiumhydroxyd.

Diese beiden Adsorptionsmittel wurden in einem Mischungsverhältnis

Aluminiumhydroxyd : Kaolin = 3 : 1

zusammengebracht.

Für 30 ccm Urin wurden jeweils 3 gr scharf abzentrifugiertes Aluminiumhydroxyd und 1 gr Kaolin, also 4 gr Adsorbens benötigt.

Versuch: Je 30 ccm Schwangerurin von 5 verschiedenen Frauen wurden mit 4 gr Adsorbens 15 Minuten stark geschüttelt, abzentrifugiert. Der überstehende Urin wurde mit Alkohol gefällt, die Fällung getrocknet, mit 7,5 ccm Aqua dest. ausgezogen, also 4fach konzentriert. Von dieser (eigentlich zu verwerfenden) Lösung wurden infantilen Mäusen zur Kontrolle 6mal 0,3 ccm injiziert, die Tiere 100 Stunden nach der ersten Injektion getötet und die Ovarien histologisch untersucht. (IU—VU in der Tabelle.)

Das Adsorbens wurde dann mit 10 ccm n/10 NaOH unter Umrühren 5 Stunden eluiert, zentrifugiert. Die überstehende hormonhaltige Natronlauge wurde sodann mit 0,5prozentiger Phosphorsäure angesäuert und mit Alkohol gefällt, die Fällung getrocknet, mit 7,5 ccm Aqua dest. ausgezogen und wie oben beschrieben injiziert. (4fache Konzentration.) I—V in der Tabelle.

Ergebnisse:	IU	IIU	IIIU	IVU	VU	I.	II.	III.	IV.	V.
Blutpunkte	+	(+)	(+)	(+)	(+)	++	++	++	+	++
Follikelreifg.	∅	∅	∅	∅	∅	+	(+)	++	+	++
Corpora lut.	∅	∅	∅	∅	∅	++	+	++	∅	+

Besprechung: Die histologischen Präparate der aus 5 verschiedenen Schwangerenurinen hergestellten Hormonlösungen zeigen, daß durch die Methode eine Hormongewinnung

ohne große Verluste möglich ist. Unser nächstes Ziel war nun, eine weitere Reinigung und Anreicherung zu erhalten.

Hierzu gab es zwei Wege:

1. Nach der Elution und Neutralisation sind Verunreinigungen in den Lösungen zu erwarten, und zwar durch
   a) Stoffe, die zufällig mit adsorbiert und eluiert wurden,
   b) Salz, welches sich beim Naturalisieren der Lauge bildete.
   Eine weitere Reinigung erschien durch Fällung des im angesäuerten Elutionsmittel gelösten Hormons durch Alkohol möglich. Zudem war so eine weitere Konzentrierung zu bewerkstelligen und für den etwaigen klinischen Gebrauch eine Keimfreimachung der Lösung zu erreichen.
2. Nochmalige Adsorption des im neutralisierten Elutionsmittel befindlichen Hormons an eine erheblich kleinere Menge von Adsorbens und abermalige Elution mit einer entsprechend kleineren Menge Lauge, wodurch gleichfalls eine Konzentrierung möglich schien.

Da nun die an Collumcarcinom erkrankte Frau auch vermehrte Mengen von Hormon ausscheidet, und zwar vorwiegend Prolan A, so wurde Urin carcinomatöser Frauen, der in großer Menge in der Münchner Universitätsfrauenklinik zur Verfügung stand, zu Versuchszwecken benützt. Es wurde im allgemeinen Mischurin von mehreren Patientinnen verwandt und zwar größere Mengen, weshalb die Absorbensmengen ebenfalls vergrößert werden mußten. Es ergab sich durch Vorversuche, daß für 250 ccm Mischurin mindestens 6 gr gut abzentrifugierten Aluminiumhydroxyds und 3 gr ebensolchen Kaolins verwendet werden mußten, wenn alles Hormon aus dem Harn absorbiert werden sollte.

Versuch: Je 250 ccm saurer Mischurin von 3 carcinomkranken Frauen wurden filtriert, mit dem Adsorbens eine Stunde geschüttelt, zentrifugiert, der Urinüberstand abgegossen, mit 0,5prozentiger Phosphorsäure angesäuert, nach Zondek gefällt, die Fällung getrocknet und mit 25 ccm Aqua dest. ausgezogen, also 10fach konzentriert. (IU—IIIU in der Tabelle.) Das Absorbens wurde mit 20 ccm n/10 NaOH 5 Stunden eluiert, zentrifugiert, die abgegossene überstehende Lauge mit 0,5prozentiger Phosphorsäure angesäuert, nach Zondek gefällt, die getrocknete Fällung mit 12,5 ccm Aqua dest. ausgezogen, also

20fach konzentriert. (I—III in der Tabelle.) Von jeder Versuchslösung erhielten die Mäuse 6mal 0,3 ccm injiziert, die Ovarien wurden 100 Stunden nach der ersten Injektion histologisch untersucht. Außerdem wurde zur Kontrolle eine ausschließliche Fällung nach Zondek (nur 10fache Konzentration, da höhere nicht vertragen werden) mit denselben Mischurinen durchgeführt. (IA—IIIA in der Tabelle.)

Ergebnisse:	IA	IIA	IIIA	IU	IIU	IIIU	I	II	III
Follikelreifg.	++	+	+	++	(+)	∅	+++	++	++

Die obigen Ergebnisse zeigen, daß das hypophysäre Prolan A aus Carcinomurin genau wie aus Schwangerenurin zu gewinnen ist, wenn auch zunächst mit Verlusten. (IU und IIU.)

Bevor ich nun weitere Versuche in dieser Richtung anstellte, war es von Wichtigkeit zu prüfen, wie sich die verschieden starken Konzentrationen der Natronlauge auf die Hormonausbeute auswirken.

Es wurde in aufeinanderfolgenden Versuchsreihen die Elutionskraft sowie die etwaige hormonzerstörende Wirkung von n/10, n/20, n/30, n/50 NaOH ermittelt.

Versuch: 30 ccm Schwangerenurin (sauer) wurde nach Zondek gefällt, die Fällung getrocknet, mit 7,5 ccm Aqua dest. ausgezogen, also 4fach konzentriert, 6mal 0,3 ccm Mäusen injiziert, die dann wie oben untersucht wurden. (Kontrolle, A in der Tabelle.)

Je 30 ccm desselben Urins wurden mit einem Adsorbensgemisch von 3 gr Aluminiumhydroxyd und 1 gr Kaolin eine Stunde geschüttelt, zentrifugiert, der überstehende Harn abgegossen, das Absorbens mit 10 ccm n/10 bzw. n/20 NaOH 5 Stunden eluiert, die überstehende Natronlauge mit 0,5prozentiger Phosphorsäure angesäuert, nach Zondek gefällt, die Fällung getrocknet, mit 7,5 ccm Aqua dest. ausgezogen, also 4fach konzentriert. Injektionen wie oben. (n/10 und n/20 in der Tabelle.)

Ergebnisse:	A	n/10	n/20
Follikelreifung	++	+	++
Corp. lutea	+	+++	+++
Blutpunkte	+	+	+++

Versuch: Anordnung wie im vorhergehenden Versuch, nur wurde mit n/5, n/10, n/30 NaOH eluiert. (2 verschiedene Urine I und II.)

Ergebnisse:	I. n/5	I. n/10	I. n/30	II. n/5	II. n/10	II. n/30
Follikelreifung	+	+	+	+	++	+
Corp. lutea	+	+	++	+	++	++
Blutpunkte	∅	+	∅	+	+	++

In einem weiteren Versuch wurde festgestellt, daß mit n/50 und n/100 NaOH kein Hormon mehr zu eluieren war.

Die Wirkung der verschieden starken Natronlauge wurde nun auch an hypophysärem Prolan A aus dem Urin von Carcinomkranken erprobt. Außerdem hatte sich bei den vorhergehenden Versuchen mit Carcinomurin immer eine Trübung der überstehenden zur Extraktion verwandten Lauge eingestellt, welche auf die Gegenwart von Aluminiumhydroxyd zu beziehen war und der beabsichtigten Reinigung entgegenwirkte. Aus diesem Grunde ließ ich in den nun folgenden Versuchen das Aluminiumhydroxyd zunächst probeweise dann regelmäßig weg und verwandte eine entsprechend größere Menge von Kaolinaufschwemmung allein.

Versuch: Je 200 ccm filtrierter Mischurin (sauer) von mehreren carcinomkranken Frauen wurden mit 0,5prozentiger Phosphorsäure leicht angesäuert, mit 8 gr Kaolin eine Stunde geschüttelt und nach Absitzen zentrifugiert, das Adsorbens mit n/10, n/20, n/30, n/50 Natronlauge 5 Stunden eluiert, abzentrifugiert, der hormonhaltige abgegossene Laugenüberstand angesäuert, mit Alkohol gefällt (nach Zondek), die Fällung getrock-

net, mit 20 ccm Aqua dest. ausgezogen, also 10fach konzentriert, und wie oben Mäusen injiziert. Desgleichen wurde mit dem Urin eine ausschließliche Alkoholfällung mit 10facher Konzentration zur Kontrolle angestellt. (A in der Tabelle.) Mit Rücksicht darauf, daß der Urin vor der Adsorption angesäuert wurde, schien es zweckmäßig, in den nun folgenden Versuchen das hormonhaltige Adsorbens immer vor der Elution mit Aqua dest. zu waschen, um die dann zuzugebenden stark verdünnten Laugen in ihrer geringen Alkalinität voll zur Wirkung kommen zu lassen. Diese Maßnahme hat sich als sehr zweckmäßig erwiesen, wie die folgenden Versuche zeigen.

Ergebnisse:	A	n/10	n/20	n/30	n/50
Follikelreifung	+-+	-+	+++	++-	++

Besprechung der Elutionskraft der verschieden starken Natronlaugen sowohl gegenüber plazentarem als auch hypophysärem gonadotropen Hormon.

Aus den histologischen Ergebnissen geht hervor, daß mit n/10 bis n/30 Natronlauge die größten Mengen von Prolan zu gewinnen sind. Allerdings sind die ersten, mit Schwangerenharn erzielten Resultate nicht ganz eindeutig, weil das Elutionsmittel infolge der Ansäuerung des Adsorbens nicht in seiner vollen Alkalinität zur Wirkung gekommen sein dürfte. Dieser Fehler wurde dann durch die oben beschriebene Auswaschung des Adsorbens vor der Elution mit Aqua dest. ausgeschaltet. Infolgedessen zeigt sich bei den mit hypophysärem gon. H. durchgeführten Versuchen eindeutig, daß die besten Resultate mit n/20 und n/30 Natronlauge zu erhalten sind. Nach Waschen des Adsorbens mit Aqua dest. gelingt es, auch noch mit n/50 Natronlauge Hormon zu eluieren, was ohne Reinigung nicht möglich war; allerdings erscheint diese Konzentration zu schwach, während n/10 und vor allem n/5 NaOH während der Elution offensichtlich Hormon zerstören. Aus diesen Gründen wurde in den nun folgenden Versuchen mit Carcinomurin nur noch n/30 Natronlauge zur Elution verwendet.

Wir versuchten nun ohne die nachträgliche Alkoholfällung nach Zondek auszukommen, da wir den Eindruck hatten, daß bei dieser Verluste entstehen. Anscheinend ist das Hormon im Elutionsmittel schon in so reiner Form vorhanden, daß es durch Alkohol nur unvollkommen fällbar ist, woraus zu schließen wäre, daß die von Zondek angegebene Fällungsmethode nicht eine spezifische ist, zum mindesten was das hypophysäre gonadotrope Hormon anbelangt, sondern daß letzteres nur durch die bei der Alkoholzusetzung entstehenden verunreinigenden Fällungsprodukte mitgerissen wird.

Versuch ohne Alkoholfällung. 8 gr Kaolin wurden mit 250 ccm Carcinomurin (sauer) aufgeschwemmt, eine Stunde geschüttelt, abzentrifugiert, mit Aqua dest. gewaschen, wieder zentrifugiert und nach Abgießen des Wassers das Adsorbens mit 40 ccm n/30 NaOH 5 Stunden eluiert. Nach abermaligem Abzentrifugieren wurde der hormonhaltige Laugenüberstand mit 0,5 prozentiger Phosphorsäure neutralisiert und etwa 6fach konzentriert, 6mal 0,3 ccm Mäusen injiziert, deren Ovarien dann histologisch untersucht wurden. (I in der Tabelle.) Der über dem Adsorbens stehende abgegossene Urin wurde zur Kontrolle mit Alkohol nach Zondek gefällt, die getrocknete Fällung mit 12,5 ccm Aqua dest. ausgezogen (20fache Konzentration), in gleicher Weise injiziert. (U in der Tabelle.) Außerdem wurde mit dem Urin eine Fällung nach Zondek (10fache Konzentration) ausgeführt. (A in der Tabelle.)

Ergebnis:	A.	U.	I.
Follikelreifung	+++	(+)	+++

Besprechung: Aus dem Versuch geht hervor, daß mit der ausschließlichen Adsorption an Kaolin genau die gleichen Ergebnisse gezeitigt wurden, wie durch die Alkoholfällung. Nach der Adsorption finden sich nur noch ganz geringe Mengen von Hormon im überstehenden Urin.

Wir hatten uns aber eingangs noch einen zweiten Weg zur weiteren Reinigung und Klärung aufgezeichnet, um dadurch noch eine stärkere Konzentrierung des gon. H. zu erreichen. An

die erste Adsorption und Elution wurde eine weitere Adsorption und Elution angeschlossen.

Versuch: Je 250 ccm Mischurin (sauer) von mehreren carcinomkranken Frauen wurden filtriert, mit 8 gr Kaolin eine Stunde geschüttelt und nach Absitzen zentrifugiert, der überstehende Urin wurde verworfen. Das Adsorbens wurde mit 40 ccm n/30 NaOH 3 Stunden eluiert, abzentrifugiert, die überstehende abgegossene Flüssigkeit mit 0,5prozentiger Phosphorsäure leicht angesäuert und dann nochmals mit einer kleineren Menge Kaolin (2 gr) eine Stunde geschüttelt, zentrifugiert. Von der überstehenden abgegossenen Flüssigkeit wurde zur Kontrolle Mäusen 6mal 0,3 ccm injiziert. (UI—UII in der Tabelle.) Die zweite Portion des Adsorbens (2 gr) wurde dann mit 10 ccm n/30 NaOH 2 Stunden eluiert, abzentrifugiert, der abgegossene hormonhaltige Laugenüberstand mit 0,5prozentiger Phosphorsäure neutralisiert, auf 12,5 ccm gebracht (20fache Konzentration) und 6mal 0,3 ccm Mäusen injiziert, (I und II in der Tabelle.) Außerdem wurde mit den beiden Mischurinen zur Kontrolle eine Fällung nach Zondek angestellt (10fache Konzentration). AI—AII in der Tabelle.

Ergebnisse:	AI.	AII.	UI	UII	I.	II.
Follikelreifung	+	+	+	(+)	+++	+++

Besprechung: Die histologischen Präparate zeigen, daß durch die obige Methode mit ausschließlicher, aber zweimal durchgeführter Adsorption und Elution eine starke Anreicherung zu erhalten ist.

Es war noch eine weitere Frage zu klären: Ist nach der ersten Elution alles Hormon aus dem Adsorbens eluiert, oder bleibt Hormon zurück? Aus diesem Grunde wurde das schon einmal eluierte 1. Adsorbens nochmals eluiert.

Versuch: Von zwei verschiedenen Urinportionen wurden je 250 ccm (sauer) und 8 gr Kaolin zusammengebracht (1. Adsorption), zentrifugiert, Absorbens mit 40 ccm n/30 NaOH 3 Stunden eluiert (1. Elution), zentrifugiert.

Ueberstehende Lauge angesäuert (0,5prozentige Phosphorsäure), nochmals an 2 gr Kaolin adsorbiert (2. Adsorption), zentrifugiert. Ueberstehende angesäuerte Lauge abgegossen und neutralisiert zur Kontrolle 6mal 0,3 ccm Mäusen injiziert. (UI—UII in der Tabelle.)

1. Adsorbens nochmals 4 Stunden mit 20 ccm n/10 NaOH eluiert, zentrifugiert, Laugenüberstand mit 0,5prozentiger Phosphorsäure neutralisiert, zur Kontrolle Mäusen injiziert. (RI—RII in der Tabelle.)
2. Adsorbens (2 gr Kaolin) 3 Stunden mit 10 ccm n/30 NaOH eluiert (2. Elution), zentrifugiert, neutralisiert mit 0,5prozentiger Phosphorsäure (20fache Konzentration) und Mäusen 6mal 0,3 ccm injiziert. (I—II in der Tabelle.)

Außerdem wurde mit den Urinen zum Vergleich eine ausschließliche Fällung nach Zondek ausgeführt (10fache Konzentration). AI—AII in der Tabelle.

Ergebnisse;	AI.	AII.	UI.	UII.	RI.	RII.	I.	II.
Follikelreifung	++	++	+	(+)	(+)	(+)	++	+++

Besprechung: Es waren bei der nochmaligen Elution der ersten Kaolinportion (RI, RII) nur noch ganz geringe Spuren von Hormon zu gewinnen, was in Anbetracht der sonstigen, ausgezeichneten Ergebnisse kaum ins Gewicht fällt. An der Versuchsanordnung wurde nun nichts mehr geändert. In zwei folgenden Versuchen konnten wir die guten Ergebnisse der angegebenen Methode bestätigen.

Methode: Je 250 ccm Urin von vier verschiedenen Portionen gemischten Harns mehrerer carcinomkranker Frauen werden filtriert, mit 0,5prozentigen Phosphorsäure angesäuert, 8 gr Kaolin zum Urin gegeben, eine Stunde geschüttelt, zentrifugiert. mit 80 ccm Aqua dest., welches dann verworfen wird, gewaschen. Das Adsorbens wird mit 40 ccm n/30 NaOH 3 Stunden eluiert, abzentrifugiert, die überstehende Natronlauge mit 0,5prozentiger Phosphorsäure angesäuert, zur 2. Adsorption an 2 gr Kaolin gegeben, eine Stunde geschüttelt, das Kaolin wieder

abzentrifugiert; die überstehende Natronlauge wird mit 0,5prozentiger Phosphorsäure neutralisiert und zur Kontrolle 6mal 0,5 ccm Mäusen injiziert. (UI—UIV in der Tabelle.) Das 2. Adsorbens (2 gr) wird mit 10 ccm n/30 NaOH (25fache Konzentration) 2 Stunden eluiert (2. Elution), zentrifugiert, das überstehende Elutionsmittel wird mit 0,5prozentiger Phosphorsäure neutralisiert, 6mal 5 ccm Mäusen injiziert. (I—IV in der Tabelle.)

Außerdem wird mit dem Mischurin eine Fällung nach Zondek mit 10facher Konzentration angestellt. (AI—AIV in der Tabelle.)

Alle Tiere wurden 100 Stunden nach der ersten Injektion getötet, die Ovarien frei präpariert, histologische Präparate davon angefertigt, die dann mikroskopisch untersucht wurden. Die Ergebnisse dieser Tierversuche waren:

	UI.	UII.	UIII.	UIV.
Follikelreifung	(+)	+	∅	∅

	AI.	AII.	AIII.	AIV.	I.	II.	III.	IV.
Follikelreifung	+	++	++	++	+++	+++	+++	+++

Besprechung: Durch nochmalige Adsorption und Elution mit entsprechend kleineren Mengen ist es uns stets gelungen, eine starke Anreicherung und Reinigung zu erzielen.

Zusammenfassung:

In der vorliegenden Arbeit wurde eine neue Methode der Gewinnung von gonadotropem Hormon aus Urin beschrieben. Es wurde in erster Linie das aus dem Hypophysenvorderlappen stammende gonadotrope Hormon berücksichtigt, welches sich im Harn von klimakterischen und collumcarcinomkranken Frauen findet, und das infolge seiner ausschließlichen Wirkung im Sinne der Follikelreifung geeignet erscheint, in Zukunft bei hypophysär bedingter Ovarialinsuffizienz der Therapie nutzbar gemacht zu werden. Das aus der Plazenta stammende gonado-

trope Hormon scheint ebenfalls durch die beschriebene Methode in sehr reiner Form aus Schwangerenharn darstellbar zu sein.

Die Methode beruht auf direkter Adsorption des im Urin befindlichen Hormons an Kaolin und Elution mit dünner Natronlauge. Durch Wiederholung dieses Vorganges läßt sich eine starke Anreicherung (bisher 25fach) und Reinigung erzielen. Wenn auch exakte vergleichende Wägungen und Testversuche gegenüber der von Z o n d e k angegebenen Fällungsmethode mit Alkohol noch nicht vorgenommen wurden, so ist doch aus einem Vergleich der Mengen von Rückstand, welcher bei Abdunstung einer nach Zondek's einerseits und der von uns beschriebenen Methode andererseits hergestellten hormonhaltigen Lösungen sich ergaben, ohne weiteres zu schließen, daß mit den angegebenen Adsorptionsverfahren viel reinere Hormonlösungen erhalten werden, als durch Anwendung des bisher üblichen Fällungsverfahrens.

Aufgabe weiterer Versuche wird es sein, die nach dem beschriebenen Verfahren gewonnenen Hormonlösungen steril zu erhalten und ihre Wirkung an der kranken Frau zu erproben.

Ich möchte nicht versäumen, an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. E y m e r für die freundliche Erlaubnis, im Laboratorium der Universitätsfrauenklinik zu arbeiten, meinen Dank auszusprechen.

Herrn Dozent Dr. F. G. D i e t e l danke ich verbindlichst für die Ueberlassung des Themas und die vielen Anregungen, die ich von ihm erhalten konnte.

Literatur:

1. Zondek, B.:
Die Hormone des Ovariums und des Hypophysenvorderlappens, Springer Wien 1937.
2. Philipp:
Zentralblatt f. Gyn. 1930, S. 1858.
„ „ „ 1930, S. 3076.
3. Borst:
M. M. W. 1931, II S. 2108.
4. Fischer u. Ertel:
Hoppe-Saylers Z. f. phys. Chem., Bd. 202, S. 83.
5. Dietel, F. G.:
Das gonadotrope Hormon des H.V.L.. Ber. üb. d. ges. Gyn. u. Geb., Bd. 27, S. 369—394. 1936.

Lebenslauf

Ich wurde am 28. Juni 1911 als Sohn des Kaufmanns Peter Schulz in Mannheim geboren. Nach vierjähriger Volksschulzeit, trat ich Ostern 1922 in das Badische Realgymnasium I in Mannheim ein und legte dort am 5. März 1931 die Reifeprüfung ab. Meine ersten 5 Semester verbrachte ich in Heidelberg. Nach im Oktober 1933 bestandenem Physikum setzte ich mein Studium an der Universität München fort, wo ich am 21. XII 1936 das medizinische Staatsexamen bestand. Im praktischen Jahre war ich sechs Monate an der I. Universitätsfrauenklinik und dann sechs Monate an der I. Medizinischen Klinik München tätig. Seit 1. I. 38 bin ich an der Dermatologischen Klinik in München als Volontärarzt beschäftigt.

Paul Schulz.